



TITLE:

資料:1 異物アルデヒド基の酸化を
触媒する霊長類肝シトクロム
P450アイソザイム(MALDO)の精製
と分子レベルにおける解析(Ⅱ 共同
利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

岩脇, 康之; 松永, 民秀; 小村, 晶子; 渡辺, 和人; 山本,
郁男

CITATION:

岩脇, 康之 ...[et al]. 資料:1 異物アルデヒド基の酸化を触媒する霊長類肝シトクロム
P450アイソザイム(MALDO)の精製と分子レベルにおける解析(Ⅱ 共同利用研究 2.研究成果
). 霊長類研究所年報 1993, 23: 91-92

ISSUE DATE:

1993-09-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164417>

RIGHT:

試料は、ニホンザル35匹、アカゲザル35匹、チンパンジー5匹、ヒト10人を対象とした。

これら対象の各種霊長類から血液を採決してリンパ球を分離し、4種のchemical peptide (cp-s, cp-c, cp-x, cp-p), と反応させ、その反応性を測定した。その結果、cp-s, cp-c, cp-xでは、HBVに感染しないニホンザル・アカゲザルとHBVに感染するチンパンジー・ヒトの間に有意差は認めなかった。しかし、cp-pに対しては、HBVに感染しないニホンザル・アカゲザルとHBVに感染するチンパンジー・ヒトの間に有意差を認めた ($P < 0.05$)。

HBVの4種のchemical peptide中HBVの増殖に関与していると考えられているpolymeraseに特異的なchemical peptideに、HBVに感染するチンパンジー・ヒトは反応が弱いのにに対し、HBVに感染しないニホンザル・アカゲザルが強く反応することは興味深い。この結果がどのような意味を持つのかは現時点では不明であるが、今後さらに検討する必要があると思われる。

自由 : 35

てんかんモデル、キンドリングにおけるニホンザルの行動の研究

日吉俊雄・天野浩一郎・工藤達也・三原忠紘・八木和一・清野昌一 (国立療養所静岡東病院),
Juhn A. Wada (University of British Columbia, Neuroscience)

ニホンザル2頭 (#1: 2歳6ヵ月, #2: 3歳6ヵ月) に対し、ベントバルビタール麻酔下で脳定位的に扁桃核、海馬、中脳網様体、帯状回に深部電極を、皮質運動野に硬膜上電極をいずれも両側性に留置し、2週間の回復期間を置いた後、左扁桃核を60Hz正弦波定電流で1日2回1秒間ずつ初回に求めた後発射誘発閾値で刺激した (キンドリング)。

発作症状の発展は、①行動の停止、リップスマッキング、探索行動、②刺激側の顔面ちくできとそれに続く頭部の向反、③対側の顔面に始まり上下肢へと拡がる一側間代けいれん、④さらに同側顔面から上下肢を含み非対称な全般性間代けいれんに至る4段階に整理され、すでに報告されたアカゲザルの場合と同様に第4段階に至った後にも部分起始性の発作特徴が明確な二次性全般化様態を

示し、光過敏性を持つセネガル産ヒトとは異なっていた (Wada, Mizoguchi & Osawa: 1978; Wada & Osawa: 1976)。各発作段階に至るのに要した刺激回数は、#1: ②83回, ③143回; ②33回, ③50回, ④89回であった (#1は今なお刺激を継続中)。アカゲザルでは②46-51, ③111-214, ④201-326回を要したと報告されており、今回のニホンザルの成績は#1ではアカゲザルと同等であるが#2では著しく少ない刺激回数で二次性全般化したことになる。#2では89回, 113回目の刺激-発作後約1時間後にそれぞれ左, 右一側間代性の自発発作が目撃され, 114回目の刺激1.5時間後に自発発作が脳波-行動記録された。この発作は入眠期に捕捉され, 対側の扁桃核に発作発射が自生し, ついで覚醒してあたりを見回す行動を示しつつ48秒間で終焉する非けいれん性の発作像を示していた。

以上のように、1) ニホンザルではアカゲザルと同様のキンドリング経過を示し、2) その進展に要する刺激回数には大きな個体差があり、進展の速い個体で自発発作が観察されたなどからてんかんの発病における遺伝性素因の関与が示唆され、3) 対側扁桃核に二次てんかん原性焦点が形成され得ることが示された。

資料 : 1

異物アルデヒド基の酸化を触媒する霊長類肝シトクロムP450アイソザイム (MALDO) の精製と分子レベルにおける解析

岩脇康之・松永民秀・小村晶子・渡辺和人・山本郁男 (北陸大・薬)

アカゲザル及びニホンザルの肝ミクロソーム中にもマウスやラットと同様、アルデヒド基をカルボン酸へと酸化する酵素の存在が認められた。その補酵素要求性を検討したところ、11-oxo- Δ^8 -tetrahydrocannabinol (11-oxo- Δ^8 -THC) を基質とした場合、NAD及びNADPによってかなりの酸化活性が認められた。このことは、アルデヒド脱水素酵素など microsomal aldehyde oxygenase (MALDO) 以外の酵素の寄与が大きいものと推定された。一方、9-anthraldehyde (9-AA) を基質とした場合、NADPHでのみ強い活性が認められたことから、P450を含むMALDOが主にその酸化反応を触媒しているこ

とが示唆された。そこで、ニホンザル肝ミクロゾームより 9-AA に対する MALDO 活性を指標として精製を行い、高いアルデヒド酸化活性を有する 2 種の P450 分子種、P450JM-A 及び JM-B と命名、を単離した。その比含量は、それぞれ 9.6 及び 5.0 nmol/mg protein であり、その見かけの分子量はいずれも 51 kDa であった。また、9-AA からのカルボン酸体生成活性は、それぞれ 14.3 及び 12.3 nmol/min/nmol P450 であり、ミクロゾームの 6 から 7 倍高かった。しかし、11-oxo- Δ^9 -THC に対するカルボン酸体生成活性は両分子種とも極めて低く、ミクロゾームの約 1/4 であった。P450JM-A 及び JM-B は、高い benzphetamine N-demethylase 活性 (JM-A 及び JM-B でそれぞれミクロゾームの 8 及び 11 倍)、7-ethoxycoumarin O-deethylase 活性 (18 及び 20 倍) 及び coumarin 7-hydroxylase 活性 (17 及び 12 倍) を有していた。一方、testosterone の 6 β -及び 16 α -位水酸化活性並びに androstenedione 生成活性も認められたが、それらはいずれもミクロゾームの活性と比較して低かった。また、 Δ^9 -THC の 3'-, 8 α -, 8 β -及び 11-位水酸化活性が認められ、3'位水酸化活性はミクロゾームの活性より 7 及び 5 倍高かった。

資料：2

赤血球 band 3 タンパクの霊長類における多様性

木村章彦 (和歌山医大・法医)

ヒト赤血球 band 3 タンパクの N 末端領域を認識する多くのモノクローナル抗体の霊長類赤血球に対する交叉反応性から、赤血球 band 3 の N 末端領域に複数の種属特異的エピトープが存在することが示されている。本研究は、この band 3 の N 末端領域の種属間の変異を cDNA の塩基配列のレベルで解析することを目的とし、ヒト赤血球 band 3 の cDNA 塩基配列を基に作製したプライマーを用いて RT-PCR により各霊長類の赤血球 band 3 の N 末端領域の cDNA 塩基配列を決定するものであるが、今年度は、プライマーの選定および作製と、ヒト血球を用いた予備実験に終始し、霊長類の血球の検討には至らなかった。平成 3 年度中に多くのプライマーの調製が完了したので、

今後ヒト血球による予備実験が終了しだい、霊長類の血球を用いた実験に取りかかる予定である。

資料：3

前肢帯筋と後肢帯筋の系統発生的対応関係に関する比較解剖学的研究

末永義園 (北海道大・医療短大)

前肢帯筋と後肢帯筋を比較すると、後肢帯骨の寛骨が直接脊柱と連結しているのに対して前肢帯骨の肩甲骨と鎖骨は胸骨・肋骨を経由して間接的に脊柱と連結しているため、前肢帯筋が著しく複雑化していることに注目される。すなわち、後肢帯筋は骨盤筋として明確化されているが、一方前肢帯筋の構成は浅背筋、浅胸筋、肩甲筋の中でいずれを含むか成書によりかなりの差異がみられ未だ統一の見解が得られていない。本研究では前肢帯筋と後肢帯筋の系統関係を明らかにすることを目的としたものであるが、今回、A. B. Howell and W. L. Straus の "The Anatomy of the Rhesus Monkey" (1961) を参照し、肢帯筋を〔1〕外肩甲帯筋、〔2〕内肩甲帯筋、〔3〕外骨盤筋、〔4〕内骨盤筋の 4 群に区分して肉眼的観察を行った。主な所見は以下の通りである。

1) 外肩甲帯筋の腹鋸筋は著明に発達し頸部と胸部の 2 部からなる。前者は前頸椎の横突起より起始し頸神経支配であり、後者は第 1～第 10 肋骨より起始し長胸神経支配である。両者は互いに連続し肩甲骨内側縁縁に停止する。2) 三角筋は鎖骨部、肩峰部、肩甲棘部の 3 部に区分される。大胸筋鎖骨部は欠如する。大円筋は後背筋の一部と癒合する。3) 殿筋群では中殿筋が最も大きく良く発達し梨状筋の一部と癒合し、腸骨の殿筋面の大部分から起こり大転子に停止する。4) 外旋筋群の中で内閉鎖筋は閉鎖孔の内面を被い腱膜となり大転子に停止する。5) 腸腰筋は大腿四頭筋の内側広筋と恥骨筋の間を下走し小転子に停止する。6) 神経支配からみると、腹側枝は屈筋系であり背側枝は伸筋系である。前肢帯筋の腹側枝は棘上筋、棘下筋、大胸筋等であり背側枝は三角筋、小円筋、肩甲下筋、大円筋、広背筋等である。一方後肢帯筋の腹側枝は梨状筋、内閉鎖筋、双子筋、大腿方形筋であり、背側枝は浅殿筋、中殿筋、深殿筋、大腿筋膜張筋等である。腹鋸筋支配の長胸神経と腸腰筋支配の大腿神経についてはさらに検